

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭62-249908

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup>A 61 K 7/00  
9/08  
31/155  
31/17

識別記号

ADA

庁内整理番号

7306-4C

7330-4C

7330-4C

④ 公開 昭和62年(1987)10月30日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 コラーゲンの架橋反応抑制剤

⑯ 特 願 昭61-91768

⑰ 出 願 昭61(1986)4月21日

⑱ 発 明 者 藤 本 大 三 郎 東京都世田谷区池尻1-3-1-301  
 ⑱ 発 明 者 長 岡 嘉 雄 東京都葛飾区東四つ木1-17-9-102  
 ⑱ 発 明 者 安 増 知 子 船橋市本郷町500-1-3-309  
 ⑱ 発 明 者 野 田 誠 二 千葉市若松町531-464  
 ⑲ 出 願 人 ライオン株式会社 東京都墨田区本所1丁目3番7号  
 ⑳ 代 理 人 弁理士 中 村 稔 外5名

## 明 細 書

1. 発明の名称 コラーゲンの架橋反応抑制剤

2. 特許請求の範囲

尿素、グアニジン及びその塩からなる群から選ばれる少なくとも1種を含有することを特徴とする、コラーゲンの架橋反応抑制剤。

## 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、コラーゲンと糖類とのメイラード反応によるコラーゲンの架橋形成(老化架橋)を抑制する架橋抑制剤に関するものである。

〔従来の技術〕

従来より、食品あるいは医薬品等に配合されるリジン、グルタミン酸やアラニン等のアミノ酸がガラクトースやデキストロースなどの糖と反応し、かっ色物質を生成することが知られており、この反応はメイラード反応と呼ばれている。これに対して、上記褐変を抑制して長期保存しても変色しない技術の開発が行なわれている。例えば、特開昭58-129945号公報には、粒状の糖類又はアミノ酸類の少なくとも一方の外周に特定の粘着性物質の薄状被膜を設けることが開示され、又特開昭58-164683号公報には、含水量3%以下の多糖類をアミノ酸に対して40%以上添加した組成物が開示されている。

一方、生体内でも糖尿病患者のヘモグロビンや

老人のコラーゲンにメイラード反応がおこっている証拠が発見され、メイラード反応と糖尿病、あるいは老化との関連が注目されている(糖尿病については S. Rahbar; Chin. Chim. Acta. 22 296 (1968) など、老化については、O. Fujimoto; Biomedical Res. 5 279 (1984) など)。これは、生体内のたんぱく質が対象であり、前記方法では、生体内で生じるメイラード反応を抑制することができないので、新規技術の開発が望まれている。

#### 〔発明が解決しようとする問題点〕

従って、本発明は、生体内で生じるメイラード反応、特にコラーゲンの架橋反応を有効に抑制できる新規技術を提供することを目的とする。さらに、本発明はコラーゲンの架橋形成を抑制して結合組織の老化を抑制できる技術を提供することを目的とする。

#### 〔問題点を解決するための手段〕

本発明は、皮膚のコラーゲンに着目し、種々の化合物を用いてコラーゲンのメイラード反応(老

化架橋)の抑制効果を調べた結果、尿素、グアニジン又はその塩が上記効果を有するとの知見に基づいてなされたのである。

すなわち、本発明は、尿素、グアニジン及びその塩からなる群から選ばれる少なくとも1種を含有することを特徴とする、コラーゲンの架橋反応抑制剤を提供する。

本発明で用いるグアニジン塩としては、硝酸塩、塩酸塩、硫酸塩、炭酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、クエン酸塩などがあげられる。これらは、単独で又は2種以上の混合物として用いることができる。

本発明では、特に尿素、グアニジン塩酸塩を用いるのが好ましい。

上記化合物は、そのまま又は水やエタノールなどの溶媒に溶解又は分散させた形態でコラーゲンの架橋形成抑制剤として使用可能である。さらに、該架橋形成抑制剤には、各種添加物、例えば防腐剤、香料などを添加することができる。

#### 〔発明の効果〕

本発明によればコラーゲンが糖類によって架橋

3

されるのを有効に防止することができる。そこで本発明の抑制剤を用いると、人体中に含まれるコラーゲンの架橋によって生じる皮膚の老化等各種の老化を効果的に防止することができる。

従って、本発明の架橋抑制剤は、化粧品や軟こう等の皮膚外用剤、注射等の方法による医療用又は健康ドリンク剤や健康食品等に配合して、用いることができる。

尚、皮膚外用剤として用いる場合には、外用剤中に本発明の抑制剤が0.1～10重量%(以下%と略称する。)含有されるようにするのがよい。注射等の医療用に用いる場合、又は食品として用いる場合には、体重1kg当り本発明の抑制剤をそれぞれ0.1～10mg、0.01～1mgとなるように用いるのがよい。

次に実施例により本発明を具体的に説明する。

#### 〔実施例〕

##### 実施例1

尿素又はグアニジン塩酸塩をコラーゲン又はコラーゲンとグルコースの系に種々の量で添加して

4

各種サンプルをつくり、コラーゲンの架橋抑制効果を調べた。

#### 架橋抑制効果測定方法

若鷄の骨を粉碎・脱灰して得たコラーゲン100mg、0.2Mグルコースの0.2Mリン酸バッファー溶液(pH 7.4)1ml、および尿素又はグアニジン塩酸塩を所定量とり、37℃で4週間反応させた。反応後、コラーゲンを遊離し、10mgのコラーゲンを常法に従がいシアン化臭素(CNBr)にて切断し(CBペプチドの生成)、アクリルアミドゲル電気泳動にかけた。

この結果得られたCBペプチドケル電気泳動パターンを第1図に、デンストメドリーの測定結果を第2図に示す。そこで、第1図のA部分(低分子量領域)に対するB部分(高分子量領域:メイラード反応により架橋が形成されたコラーゲンの高分子物)の比を、用いたサンプルの組成とともに表-1にまとめて示す。

尚、第1図においてコラーゲンは図の上側から下側に向けて泳動し、上側が高分子量領域、下側

5

6

表 - 1

が低分子量領域である。各バンドは、図の右側に示した様なペプチドであると同定されている。又、第2図において、図の右側が高分子量領域、左側が低分子量領域である。図中の番号は、第1図のゲル電気泳動の主なピークに対応しており、それぞれ

- 1  $\alpha_1CB_1$
- 2  $\alpha_2CB_1 + \alpha_1CB_1$
- 3  $\alpha_1CB_{2,1}$
- 4  $\alpha_1CB_{3,1}$
- 5  $\alpha_2CB_{2,1}$

に相当する。

| サンプル<br>No | サンプルの組成           |                  |                | 結 果<br>A部分/<br>B部分 |
|------------|-------------------|------------------|----------------|--------------------|
|            | コラー<br>ゲン<br>(mg) | グルコ<br>ース<br>(M) | 架 橋 抑 制 剤      |                    |
| 1          | 100               | —                | —              | 0.14               |
| 2          | 100               | 0.2              | —              | 0.40               |
| 3          | 100               | 0.2              | グアニジン塩酸塩 5mM   | 0.82               |
| 4          | 100               | 0.2              | グアニジン塩酸塩 10mM  | 0.31               |
| 5          | 100               | 0.2              | グアニジン塩酸塩 135mM | 0.39               |
| 6          | 100               | 0.2              | 尿 素 135mM      | 0.37               |

7

以上の結果より、尿素135 mM、あるいはグアニジン塩酸塩25～135 mM添加して、メイラード反応によるコラーゲンの架橋高分子化が抑制され、尿素およびグアニジン塩が老化架橋抑制に効果があることがわかった。

なお、生体では、コラーゲンおよびグルコース濃度が、本発明の評価法と比較して低いため、老化架橋は非常に長時間かけておこると考えられ、尿素およびグアニジン塩の投与量は本発明で効果のあった濃度範囲に限定されることはない。

#### 実施例2

次に本発明のコラーゲンの架橋抑制剤を添加した各種組成物を次に示す。

8

#### クリーム配合例

| 成 分    |                  | 配 合 量 |
|--------|------------------|-------|
| 油<br>相 | 流動パラフィン          | 6重量部  |
|        | パラフィンワックス        | 1     |
|        | パルミチン酸イソプロピル     | 3     |
|        | 鯨ロウ              | 2     |
|        | セチルアルコール         | 2     |
|        | ステアリン酸           | 2     |
|        | グリセリンモノステアレート    | 1.45  |
|        | POE(40) モノステアレート | 1.35  |
| 水<br>相 | ブチルパラベン          | 0.1   |
|        | メチルパラベン          | 0.2   |
|        | 尿 素              | 5     |
|        | 精製水              | 75.9  |

9

10

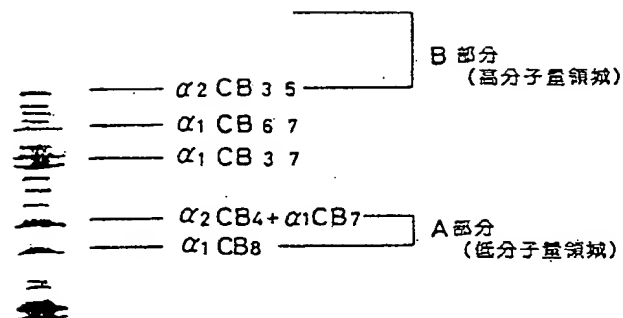
## 軟こう配合例

| 成分 |            | 配合量    |
|----|------------|--------|
| 油相 | 白色ワセリン     | 25 重量部 |
|    | ステアリルアルコール | 22     |
|    | ブチルパラベン    | 0.015  |
| 水相 | プロピレングリコール | 12     |
|    | S D S      | 1.5    |
|    | メチルパラベン    | 0.025  |
|    | グアニジン塩酸塩   | 5      |
|    | 精製水        | 34.46  |

第 1 図

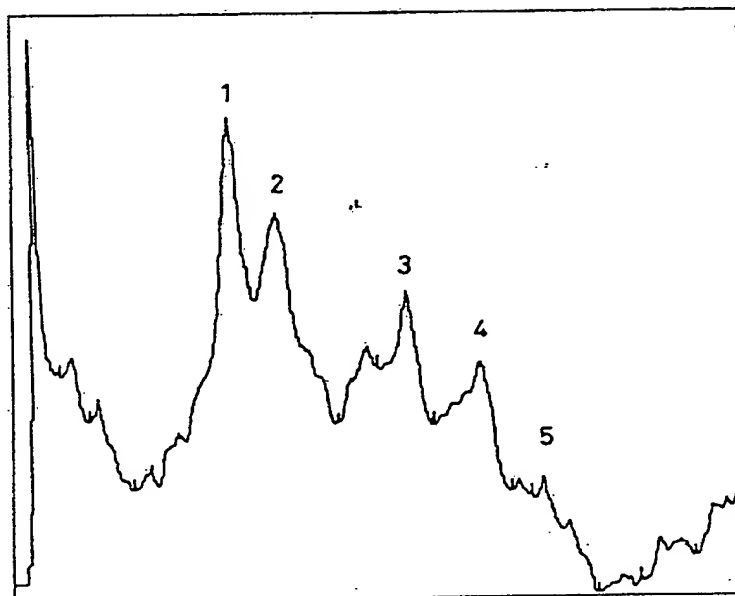
## 4. 図面の簡単な説明

第 1 図はコラーゲンの C B ペプチドのゲル電気泳動を、第 2 図はゲル電気泳動のデンストメトリーを示す。



1 1

第 2 図



手 続 補 正 書

昭和 年 61 月 6 日

特許庁長官 宇 賀 道 郎 殿

1. 事件の表示 昭和61年特許願第91768号

2. 発明の名称 コラーゲンの架橋反応抑制剤

3. 補正をする者

事件との関係 出願人

名 称 (676) ライオン株式会社

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区丸の内3丁目3番1号  
電話(代)211-8741

氏 名 (5995) 弁理士 中 村 稔



5. 補正命令の日付 自 発

6. 補正の対象 明細書の発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容

明細書第6頁12行目の「ペプチドケル」を「ペプチド  
ゲル」に訂正する。



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-249908

(43)Date of publication of application : 30.10.1987

---

(51)Int.Cl.

A61K 7/00

A61K 9/08

A61K 31/155

A61K 31/17

---

(21)Application number : 61-091768

(71)Applicant : LION CORP

(22)Date of filing : 21.04.1986

(72)Inventor : FUJIMOTO DAIZABURO  
NAGAOKA YOSHIO  
YASUMASU TOMOKO  
NODA SEIJI

---

### (54) CROSSLINKING REACTION INHIBITOR FOR COLLAGEN

#### (57)Abstract:

PURPOSE: The titled inhibitor which effectively suppresses Maillard reaction occurring in organisms, especially crosslinking reaction of collagen and can inhibit aging of connective tissue, containing at least one selected from urea, guanidine and salts thereof.

CONSTITUTION: A crosslinking reaction inhibitor for collagen, containing at least one selected from a group consisting of urea, guanidine and salt (e.g. nitrate, hydrochloride, sulfate, carbonate, oxalate, citrate, etc.) thereof. The inhibitor is directly used as it is or in a dissolved or dispersed state in water or ethanol. 0.1W10wt% of the inhibitor is added to an external preparation and when the inhibitor is used as a drug or a food, the amount of the inhibitor is 0.1W10mg and 0.01W1mg per kg, respectively.

USE: The inhibitor is utilized as a skin external preparation such as cosmetic, ointment or for medical use such as injection or blended with healthy drink agent, healthy food, etc.

---

#### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office